ChinaXiv合作期刊

卤地菊乙醇提取物 W40 单体诱导 GLC-82 细胞凋亡的分子机制研究

代立婷[1] 吴忠南[2] 黄翔[1] 杨杰[1] 王国才[2] 蒋建伟[1**]

（1 暨南大学医学院 广州 510632 2 暨南大学药学院中药及天然产物研究所 广州 510632）

摘要 目的:探讨卤地菊 *Wedelia prostrate*(Hook.et Arn.)Hemsl.的乙醇提取物 W40 单体对非小细胞肺癌 GLC-82 细胞的抗肿瘤作用分子机制。方法: 通过 MTT 和克隆形成抑制实验检测 W40 对非小细胞肺癌 GLC-82 细胞增殖的影响; 通过细胞划痕实验检测 W40 对细胞迁移的影响; 通过 Annexin V-FITC /PI 双染法检测 W40 对细胞凋亡的诱导; 通过 Western blotting 分析细胞增殖和凋亡相关蛋白的水平。结果: MTT 实验表明，W40 对 GLC-82 细胞有较为明显的细胞毒作用；克隆形成抑制实验表明，W40 可以显著抑制 GLC-82 细胞增殖, 且抑制程度呈现浓度依赖效应；细胞划痕实验表明，W40 能够一定程度上抑制 GLC-82 细胞的迁移能力; Annexin V-FITC /PI 双染的结果显示，随着药物浓度的增加, 细胞凋亡率逐渐增加; Western blotting 结果表明,随着药物浓度的增加, p-Stat3 蛋白的表达水平下降, Stat3 下游蛋白 Bcl-2、Mcl-1 的表达减少。同时，促凋亡蛋白 Bax 的表达增多, 并伴随 Caspase-9、Caspase-3 活化及多聚 ADP- 核糖聚合酶 PARP 酶切失活；p-BRAF 蛋白的表达水平下降, p-BRAF 下游蛋白 p-MEK、p-ERK 表达减少。结论: W40 通过抑制 BRAF / MAPK / ERK 及 Stat3 信号通路来诱导细胞凋亡。

关键词 卤地菊 肺癌 细胞凋亡 Stat3 BRAF / MAPK / ERK 信号通路

chinaXiv:201707.00654v1

ChinaXiv合作期刊

Molecular mechanism of inducing GLC - 82 cells apoptosis by ethanol extract from *Wedelia prostrate*(Hook.et Arn.)Hemsl.

DAI Li-ting[1] WU Zhong-nan[2] HUANG Xiang[1] YANG Jie[1] WANG Guo-cai [2] JIANG Jian-wei[1**]

(1 Department of Biochemistry, Medical College, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

(2 Institute of Traditional Chinese Medicine and Nature Products, Jinan University, Guangzhou 510630, China)

Abstract Objective: To study the antitumor mechanism of W40, a monomer purified from Wedelia prostrate (Hook.et Arn.) Hemsl. Methods: The effects of W40 on the cell proliferative of GLC-82 cells were detected by MTT assay and colony formation assay. The migratory abilities of GLC-82 cells s were observed by wound healing assay. Cell apoptosis was evaluated by Annexin V-FITC/PI staining analysis． The levels of apoptosis-relative proteins and cell proliferation-related proteins, such as Caspase-3, PARP, Stat3 and ERK, were detected by Western blotting. Results: MTT assay showed that W40 had a significant cytotoxic effect on non-small cell lung cancer GLC-82 cells. Colony formation assays showed that W40 significantly inhibited GLC-82 cells proliferation. The migration of GLC-82 cells was inhibited by W40 in a dose-dependent manner. Flow cytometry showed that the apoptotic rate increased gradually in a concentration-dependent manner. W40 down-regulated Stat3 as decreasing p-Stat3 and downstream proteins of Bcl-2 and Mcl-1. At the same time, W40 up-regulated the expression of pro-apoptotic protein Bax, and increased the cleavaged Caspase-9， Caspase-3 and PARP. W40 also down-regulated BRAF / MAPK / ERK signal pathway as decreasing p-BRAF, p-MEK and p-ERK. Conclusions: W40 induced apoptosis by inhibiting BRAF / MAPK / ERK and Stat3 signaling pathways.

Key words *Wedelia prostrate* Lung cancer Apoptosis Stat3 BRAF / MAPK / ERK signaling pathways

chinaXiv:201707.00654v1

ChinaXiv合作期刊

chinaXiv:201707.00654v1

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一，全球由肺癌造成死亡人数高达 160 万，约 19.4 %，位居第一[1, 2]。肺癌通常分为两类，非小细胞肺癌（NSCLC）和小细胞肺癌（SCLC），其中非小细胞肺癌占肺癌所有发病率的 80%左右[3]。由于肺癌缺乏有效的早期筛查手段，大多数肺癌患者确诊时已为晚期。NSCLC 的常见治疗方法有手术、放疗和化疗，然而，我国肺癌的 5 年生存率仅为 18%左右[4]。近年来，多项研究表明 EGFR、ALK、c-MET、K-RAS、BRAF 可作为 NSCLC 分子靶向治疗的相关靶点[5, 6]。分子靶向治疗作为一种新型肿瘤治疗方案，通过研究特定基因的变化有助于开发个性化治疗，改善预后情况，延长患者生存率[7]。

卤地菊 *Wedelia prostrate*(Hook.etArn.)Hemsl.为菊科蟛蜞菊属植物，一年生草本，适合生长于海岸干燥沙土地区[8]。在《福建民间草药》中，其别名为黄花龙舌草，具有清热解毒，祛痰止咳等功效，可用于治疗急性扁桃腺炎、喉蛾、喉痹、百日咳、肺热喘咳、鼻衄、痈疖疔疮等症状[9]。其化学成分研究表明，卤地菊含主要含有黄酮类、萜类、有机酸类以及甾体类等化学活性成分[10]。有研究表明，卤地菊的醇提物显示具有良好的细胞毒作用，且其在结肠癌 SW480 细胞中诱导典型的凋亡细胞死亡[11]。

本课题组从卤地菊中分离纯化出 7 种单体，利用 MTT 法从中筛选出了具有明显抗肿瘤效果的活性单体 W40 化合物，根据化学上的系统命名法则命名为 1β,9α-diacetoxy-4α-hydroxy-6β-isobutyroxyprostatolide[12]，其结构式见图 1(a)。经文献检索，尚未有 W40 单体抗肿瘤作用机制的报道。本文进一步探究 W40 对肺癌 GLC-82 细胞的抗肿瘤作用机制，并为 W40 的临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

ChinaXiv合作期刊

1.1　材　料

卤地菊W40（$C_{26}H_{36}O_{9}$）为本课题组库存分子。HepG2细胞、MDA-MB-231细胞、GLC-82细胞、PC-9细胞和A549细胞由中山大学附属肿瘤医院提供，Caspase 3、Caspase 9、PARP、Bax、Bcl-2、Mcl-1、Stat3、p-Stat3、BRAF、p-BRAF、MEK、ERK、p-MEK和GAPDH等一抗均购自美国Cell Signaling Technology，MTT和结晶紫购自美国Sigma公司， Annexin V-FITC /PI 双染试剂盒购自上海罗氏生物科技有限公司。

1.2　方　法

1.2.1　细胞培养　　用DMEM/F12培养液(含有10 % FBS)培养HepG2细胞、MDA-MB-231细胞、GLC-82细胞、PC-9细胞和A549细胞，置于37 ℃、含5 % CO_2的恒温培养箱中常规培养。每两天更换新鲜培养液，细胞融合度达到80 %左右时，用0.25 %胰酶消化传代。

1.2.2　MTT 法测定细胞增殖　　收集对数生长期的细胞接种在 96 孔板中，1000 个/孔，设置 3 个复孔，每孔含有培养液 100 μl。待细胞贴壁后加入 100 μl 含有不同浓度药物的培养液，继续培养细胞 24、48、72 h，实验终止前 4 h 每孔加入 10 μl 5 mg/mL 的 MTT 试剂并孵育 4 h，弃去培养液，加入 100 μl DMSO 溶解结晶，待结晶全部溶解后，在酶标仪上检测 570 nm 波长下每孔的吸光度（OD 值）并记录下结果，计算细胞存活率。存活率 (%) = (A 实验组/ A 对照组)×100 %，实验重复 3 次。

1.2.3　克隆形成抑制实验　　取对数生长期的 GLC-82 细胞，胰酶消化后处理为细胞悬液，接种于 6 孔板中(800 个/孔) ，连续培养 14 天后弃去上清液，用 PBS 洗涤细胞 3 次，用 4 %多聚甲醛固定细胞 30 min，弃去固定液后，用 0.1 %结晶

chinaXiv:201707.00654v1

ChinaXiv合作期刊

紫染色 30 min。轻轻冲洗后干燥，最后拍照记录结果。

1.2.4 细胞划痕实验 取对数生长期的 GLC-82 细胞接种于 6 孔板中，培养 24 h 后细胞密度达到 90 %左右，用 200 μl 的无菌枪头在铺满单层细胞的上面迅速划 2 道痕（呈“十”字划痕）。PBS 洗去脱落细胞后，换为无血清培养液，设置 DMSO 对照组和加药组，每组 3 个复孔，置于 37 ℃、含 5 % CO_2 的恒温培养箱，分别取 0 h、24 h 和 48 h 作为观察时间点并拍照记录，比较细胞划痕修复速度及方式的差异。

1.2.5 流式细胞术检测细胞凋亡 取对数生长期的 GLC-82 细胞接种于 6 孔板，加入不同浓度的药物以及 DMSO 作为对照组。24 h 后收集细胞，1200 r /min，离心 3 min，弃去上清液，PBS 洗涤细胞 2 遍，加入 500 μl Binding Buffer 悬浮细胞，再加入 5 μl Annexin V-FITC、5 μl PI，混匀后于室温避光染色 15 min，最后在流式细胞仪上检测细胞凋亡。

1.2.6 Western blotting 检测相关信号通路蛋白 用不同浓度的 W40 处理 GLC-82 细胞 24 h，用预冷的 PBS 洗细胞 2 遍，加入细胞裂解液(含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂) 冰上裂解 15 min，12000 r /min，4 ℃ 离心 15 min，吸取上清液转移到新的 EP 管中，用 BCA 法测定蛋白质浓度。取适量蛋白质上样至 SDS-PAGE 聚丙烯酰胺凝胶电泳，转膜，封闭。4 ℃一抗孵育过夜，TBST 洗膜 10 min/次，共 3 次；二抗室温孵育 2 h，TBST 洗膜 10 min/次，共 3 次；于暗室发光显影洗片，扫描机扫描。

2 结 果

2.1 W40 对肺癌 GLC-82 细胞的细胞毒作用

chinaXiv:201707.00654v1

ChinaXiv合作期刊

chinaXiv:201707.00654v1

利用 MTT 法检测 W40 对肝癌 HepG2 细胞、乳腺癌 MDA-MB-231 细胞以及 3 种肺癌细胞株 GLC-82、PC-9 和 A549 细胞的细胞毒作用，见图 1(b-f)。结果显示，W40 作用于乳腺癌 MDA-MB-231、肺癌 GLC-82 和 PC-9 细胞的 IC_{50} 分别为 47.13±1.60、15.81±0.47 和 69.86±1.31 μmol/L；而 W40 作用于肝癌 HepG2 和肺癌 A549 细胞的 IC_{50} 均大于 80 μmol/L。其中 W40 对肺癌 GLC-82 细胞有较为明显的细胞毒作用，且呈现出剂量依赖关系。

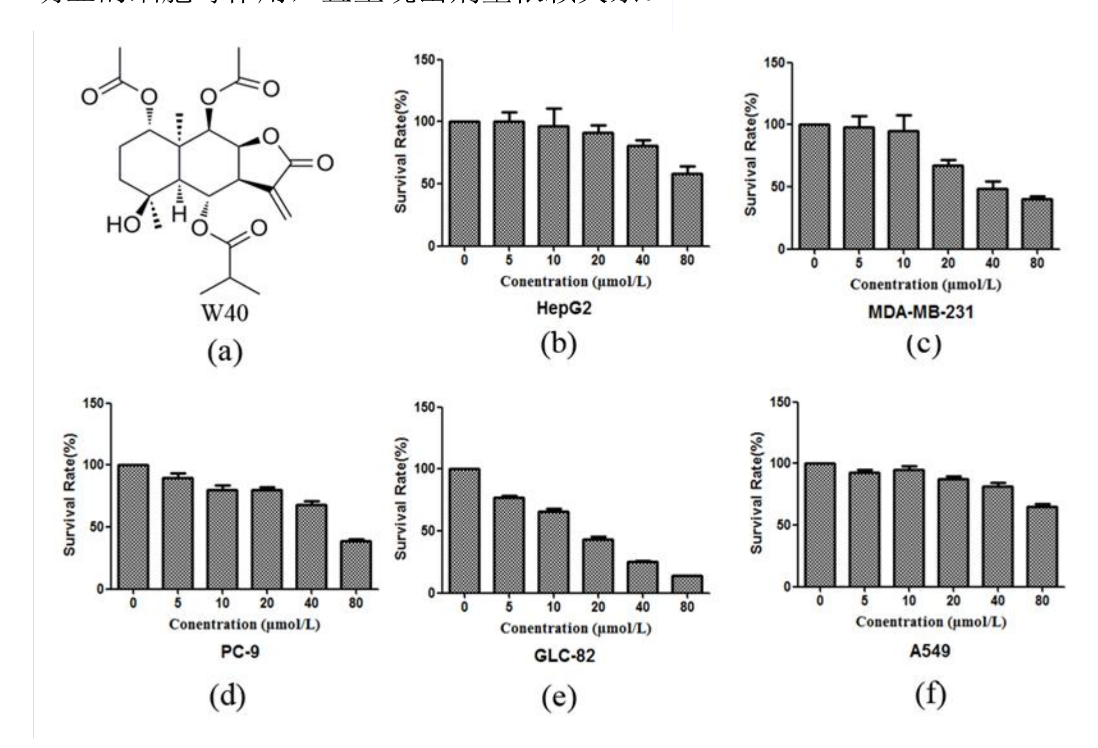


图 1 W40 的化学结构及其对肿瘤细胞的影响

Fig.1 Chemical structure of W40 and its effect on different cancer cells

(a) The chemical structure of W40 (b-f) HepG2, MDA-MB-231, PC-9, GLC-82 and A549 cells were treated with W40 at various concentrations for 48 h

2.2 W40 抑制肺癌 GLC-82 细胞的细胞迁移和细胞增殖

利用细胞划痕实验检测 W40 对 GLC-82 细胞迁移能力的影响。与对照组比较，不同浓度 W40(20 μmol /L、40 μmol /L) 处理 GLC-82 细胞 24 h 和 48 h，细胞迁移能力受到抑制，并呈现浓度依赖性，见图 2(a)。同时，W40 作用 GLC-82

ChinaXiv合作期刊

细胞 14 天，与对照组相比，随着药物浓度增加，细胞克隆数显著减少，并且克隆体积显著变小。当药物浓度为 5 μmol /L 时，GLC-82 细胞克隆几乎完全被抑制，见图 2(b)。

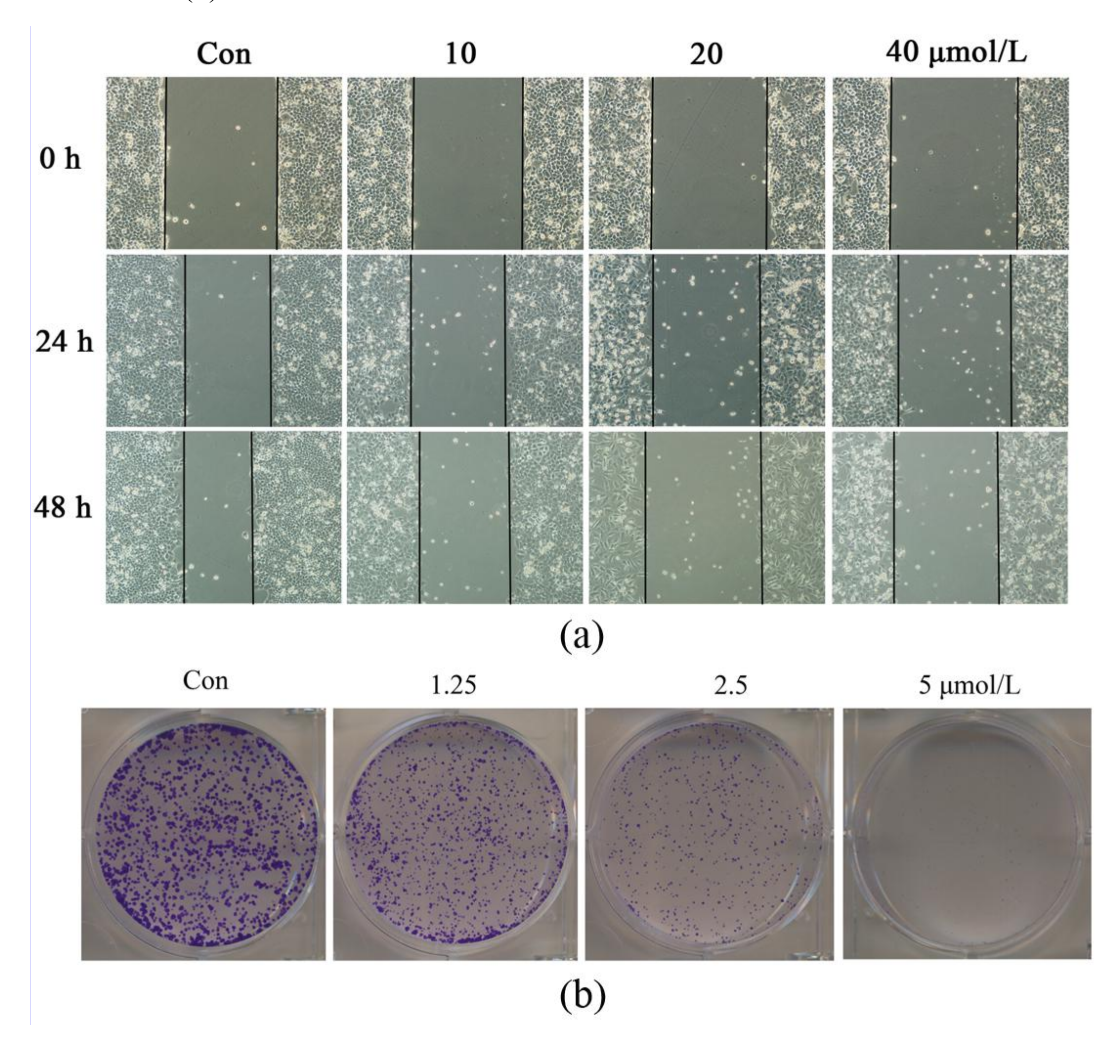


图 2 W40 对肺癌 GLC-82 细胞迁移和增殖能力的影响

Fig.2 Effects of W40 on migration and colon formation on GLC-82 cells

(a) GLC-82 cells migration was inhibited by W40 in does-dependent manner　(b) W40 reduced colon formation of GLC-82 cells

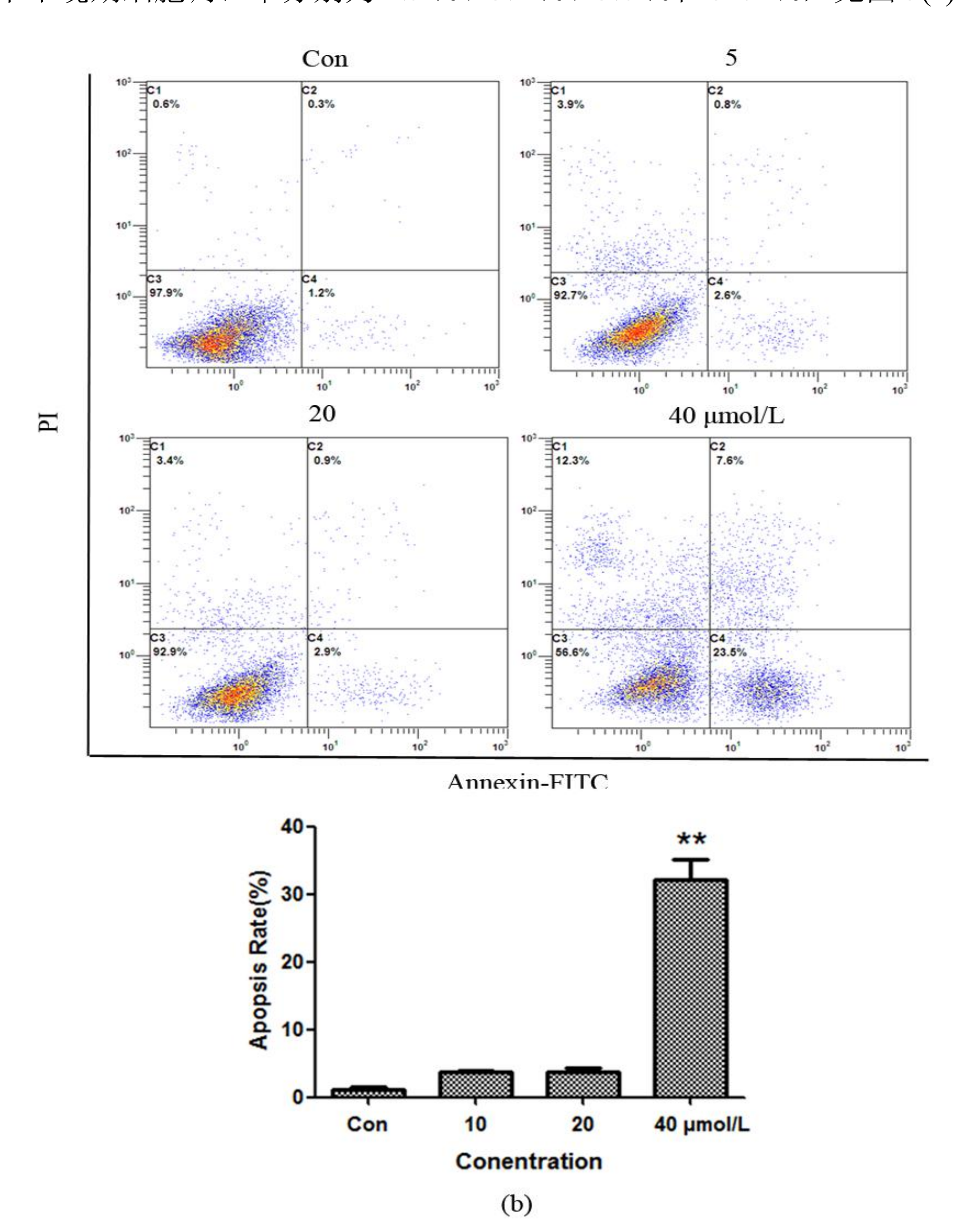
2.3　W40 诱导 GLC-82 肺癌细胞凋亡

利用 Annexin V-FITC /PI 双染流式细胞术检测细胞凋亡，结果显示，W40 诱导 GLC-82 细胞凋亡，且随着 W40 浓度的增加，GLC-82 细胞的凋亡率逐渐升

chinaXiv:201707.00654v1

ChinaXiv合作期刊

高。用不同浓度的 W40（0、10、20、40 μmol/L）处理 GLC-82 细胞 24h，GLC-82 细胞中早晚期细胞凋亡率分别为 1.5 %、3.4 %、3.8 %和 31.1 %，见图 3(a)。



(b)

图 3 W40 对肺癌 GLC-82 细胞凋亡的影响

Fig.3 Effects of W40 on apoptosis of GLC-82 cells

(a) GLC-82 cells apoptosis detected by Annexin V-FITC/PI double staining (b) $^{**}P<0.01$, compared with control

2.4 W40 对 MAPK/ERK 信号通路的影响

MAPK 信号通路的异常活化会影响肿瘤的发生发展。ERK 作为 MAPK 家族

chinaXiv:201707.00654v1

ChinaXiv合作期刊

chinaXiv:201707.00654v1

的成员之一，广泛存在于各种组织，参与细胞的增殖、凋亡、分化的调控。为了研究 W40 是否通过 MAPK/ERK 信号通路来影响细胞凋亡，我们检测了涉及 MAPK/ERK 信号通路的相关蛋白的活化情况。当 W40 作用于 GLC-82 细胞 24 h，随着 W40 作用浓度的增加，p-BRAF，p-MEK 和 p-ERK 均表达下降，而 BRAF，MEK 和 ERK 的表达无明显变化，见图 4。这说明 W40 抑制了 MAPK/ERK 信号通路的活化，导致细胞凋亡发生。

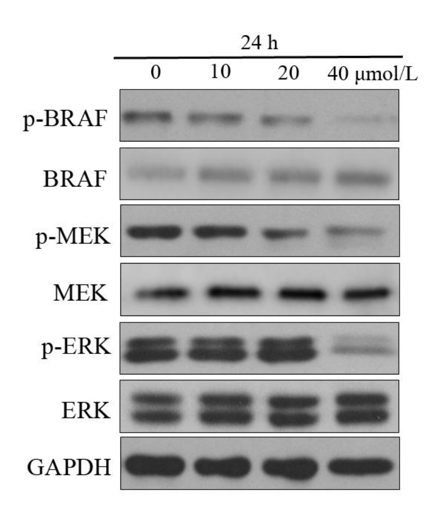


图 4 Western blotting 检测 MAPK/ERK 信号通路相关蛋白

Fig.4 The expression level of MAPK/ERK signaling pathway

2.5　Western blotting 检测细胞凋亡相关蛋白的表达

细胞凋亡是由基因控制的自主、有序的死亡过程，它对于维持内环境的稳定具有十分重要的意义。细胞凋亡的基本过程是细胞感受到凋亡刺激信号后，调控凋亡的分子进行相互作用，促进蛋白水解酶(Caspase)的活化，最后启动细胞发生凋亡。结果显示，当 W40 处理 GLC-82 细胞 24 h 后，随着药物浓度的增加，Caspase-9、Caspase-3 活化，且 PARP 被切割，见图 5。Caspase-3 剪切 PARP 后，破坏了其结构的完整性，使 PARP 失去其酶活力，加速细胞的不稳定，从而促进细胞凋亡。

ChinaXiv合作期刊

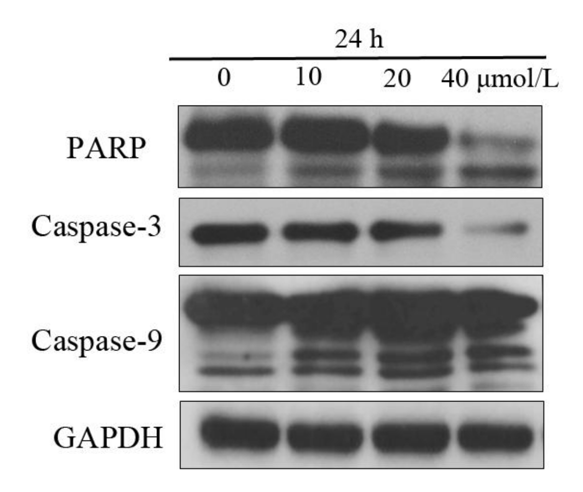


图 5 检测细胞凋亡相关蛋白的表达

Fig.5 The expression of apoptosis-related proteins detected by the Western blotting

2.6 Western blotting 检测 Stat3 信号通路相关蛋白

在肿瘤发生中，异常激活的 STAT 蛋白能够调控某些与细胞增殖和存活相关基因的表达，因此我们检测了 STAT 信号通路。结果显示，当 W40 处理 GLC-82 细胞 24 h 后，随着药物浓度的增加，p-Stat3 表达水平逐渐下降，其下游蛋白 Mcl-1、Bcl-2 表达下降，Stat3 信号通路被抑制。此外，抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达减少，促凋亡蛋白 Bax 表达增加，二者比值下降，促进了细胞凋亡。表明 W40 通过抑制 Stat3 信号通路而诱导肿瘤细胞发生凋亡凋亡，见图 6。

chinaXiv:201707.00654v1

ChinaXiv合作期刊

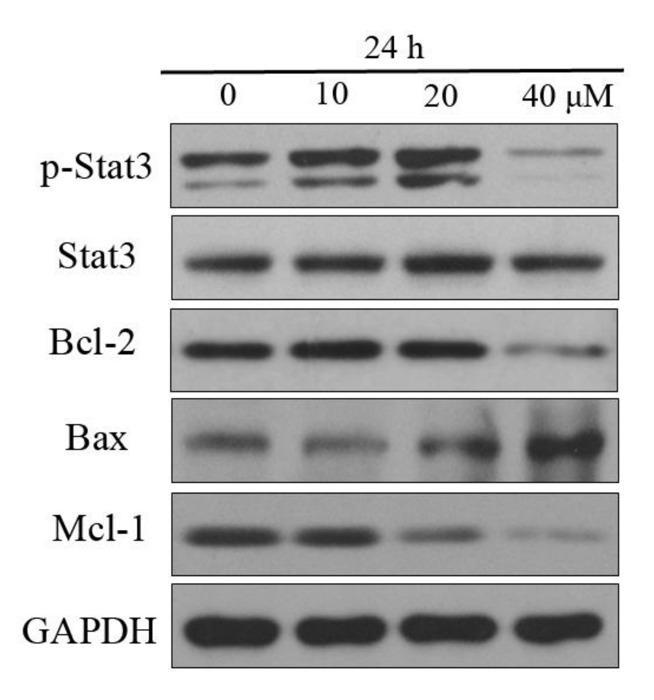


图 6 Western blotting 检测 Stat3 信号通路相关蛋白

Fig.6 The expression level of Stat3 signaling pathway

3　讨　论

卤地菊 *Wedelia prostrate*(Hook.et Arn.)Hemsl.为菊科蟛蜞菊属植物，在我国主要分布于广东、福建、台湾、浙江等地[13]。在《福建民间草药》的记载中，卤地菊可用于治疗急性扁桃腺炎、喉蛾、喉痹、百日咳、肺热喘咳、鼻衄、痈疖疔疮等症状。可发挥治喉蛾，喉痹，白喉，百日咳，肺热喘咳，鼻衄，痈肿，疔疮等功效[14]。实验研究表明，卤地菊提取物对白血病（K562），肝癌（HepG2）和胃癌（SGC-7901）均有一定的细胞毒作用，但其作用机制尚不明确[11]。

W40 是本课题组从卤地菊乙醇提取物中提取的一种单体成分，同时三裂叶蟛蜞菊中也存在[12]，但关于 W40 化合物的抗肿瘤机制研究尚缺乏相关报道。结果表明，我们通过 MTT 实验发现 W40 对肺癌 GLC-82 细胞有较为明显的细胞毒作用；克隆形成实验以及细胞划痕实验发现 W40 抑制肺癌 GLC-82 细胞增殖以及细胞迁移能力；Annexin V-FITC /PI 双染实验发现 W40 诱导肺癌 GLC-82 细胞

chinaXiv:201707.00654v1

ChinaXiv合作期刊

凋亡。

MAPKs 家族由细胞外信号调节激酶(ERK)，p38 和 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)组成。MAPK 通过磷酸化核转录因子、细胞骨架蛋白及酶类等参与细胞增殖、分化、转化及凋亡的调节，并与炎症、肿瘤等多种疾病的发生密切相关[15, 16]。MAPK/ERK 信号通路是研究得比较清楚的一条通路。在外界因子的刺激下 Ras 激活，将 Raf 从胞浆转移到胞膜并激活，活化的 Raf 通过磷酸化 MEK 环上的丝氨酸残基而将其激活。MEK 再将 ERK 激活，进而磷酸化许多与胞质和胞膜相连的底物[17]。ERK 还可被快速地转位到细胞核激活 AP- 1、ELK- 1、SAP 等涉及增殖的转录分子，发挥促进细胞增殖、抑制细胞凋亡的作用[18]。

STAT 蛋白作为转录因子，主要是调控宿主的应激反应，可广泛地调控细胞各种生理活动，包括细胞增殖，侵袭和凋亡[19]。特别是 STAT3，通常在肿瘤处于持续激活状态，可诱导肿瘤恶性增殖和凋亡抑制[20]。在我们的研究中，W40 抑制了 STAT3 的磷酸化，导致 STAT3 的下游靶基因的转录产物 Bcl-2、Mcl-1 等表达降低，Bcl-2 不能与 Bax 结合，促进了 Bax 释放形成同源二聚体，抑制 Bcl-2 的抗凋亡作用。同时，Bax 形成同源二聚体可引起线粒体内、外膜之间的通透性转换孔开放，线粒体体膜电位下降，释放 Cytochrome C，导致下游 Caspase 家族级联活化反应，引起内源性细胞凋亡；活化的 Caspase 还可以切割 PARP，加速细胞的不稳定，共同促进细胞凋亡[21]。

本文发现 W40 能抑制肺癌 GLC-82 细胞的增殖和迁移能力，并且对其分子机制做了初步探讨。W40 能在一定程度上抑制肺癌 GLC-82 细胞迁移能力，W40 还能促进肺癌 GLC-82 细胞凋亡，细胞内抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达降低而促凋亡蛋白 Bax 表达增加，同时 W40 能抑制 STAT 信号通路的靶基因的蛋白表达，促进

chinaXiv:201707.00654v1

ChinaXiv合作期刊

细胞凋亡。此外，本实验显示 W40 还可以通过抑制 MAPK/ERK 信号通路发挥诱导细胞凋亡、抑制肺癌细胞增殖的作用，在治疗肺癌方面表现出良好的应用前景，这为卤地菊的临床应用提供了更多的理论依据。

致谢 本研究受到暨南大学科研培育与创新基金跃升计划(11615424) 资助

参考文献

[1] Cheng T Y, Cramb S M, Baade P D, et al. The International Epidemiology of Lung Cancer: Latest Trends, Disparities, and Tumor Characteristics. Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer, 2016,11(10):1653-1671.

[2] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. International journal of cancer Journal international du cancer, 2015,136(5):359-386.

[3] Kenfield S A, Wei E K, Stampfer M J, et al. Comparison of aspects of smoking among the four histological types of lung cancer. Tobacco control, 2008,17(3):198-204.

[4] Mao Y, Yang D, He J, et al. Epidemiology of Lung Cancer. Surgical oncology clinics of North America, 2016,25(3):439-445.

[5] Hsu H C, Thiam T K, Lu Y J, et al. Mutations of KRAS/NRAS/BRAF predict cetuximab resistance in metastatic colorectal cancer patients. Oncotarget. 2016,7(16):22257-22270.

[6] Califano R, Abidin A, Tariq N U, et al. Beyond EGFR and ALK inhibition: unravelling and exploiting novel genetic alterations in advanced non small-cell lung

chinaXiv:201707.00654v1

ChinaXiv合作期刊

cancer. Cancer Treat Rev. 2015,41(5):401-411.

[7] Mok T S , Wu Y L, Thongprasert S, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. The New England journal of medicine, 2009,361(10):947-957.

[8] Vieira H S, Takahashi J A, Boaventura M A. Constituents from aerial parts of Wedelia paludosa, Fitoterapia, 2001,72(7):854-856.

[9] Dai J, Zhu L, Yang L, et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil from Wedelia prostrata. EXCLI journal, 2013,12:479-490.

[10] Ragasa C Y, Padolina W G, Bowden B F, et al. New Eudesmanolide Sesquiterpenes from a Philippines Collection of Wedelia prostata. Journal of Natural Products, 1993,56(3):386-393.

[11] Ma X H, Wang Z B, Zhang L, et al. Diterpenoids from Wedelia prostrata and Their Derivatives and Cytotoxic Activities. Chemistry & biodiversity, 2017,14(5) :1-8.

[12] Li Y, Hao X, Li S, et al. Eudesmanolides from Wedelia trilobata (L.) Hitchc. as potential inducers of plant systemic acquired resistance. Journal of agricultural and food chemistry, 2013,61(16):3884-3890.

[13] Li X, Dong M, Liu Y, et al. Structures and biological properties of the chemical constituents from the genus Wedelia. Chemistry & biodiversity, 2007,4(5):823-836.

[14] Miles D H, Chittawong V, Payne A M, et al. Cotton boll weevil antifeedant activity and antifungal activity (Rhizoctonia solani and Pythium ultimum) of extracts of the stems of Wedelia biflora. Jagricfood Chem, 1990,38(7):1591-1594.

chinaXiv:201707.00654v1

ChinaXiv合作期刊

[15] Pullikuth A K, Catling A D. Scaffold mediated regulation of MAPK signaling and cytoskeletal dynamics: a perspective. Cellular signalling, 2007,19(8):1621-1632.

[16] Huang C, Jacobson K, Schaller M D. MAP kinases and cell migration. Journal of cell science, 2004,117(Pt 20):4619-4628.

[17] Steelman L S, Chappell W H, Abrams S L, et al. Roles of the Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR pathways in controlling growth and sensitivity to therapy-implications for cancer and aging. Aging (Albany NY), 2011,3(3):192-222.

[18] Boilly B, Vercoutter-Edouart A S, Hondermarck H, et al. FGF signals for cell proliferation and migration through different pathways. Cytokine & growth factor reviews, 2000,11(4):295-302.

[19] Meyer T, Vinkemeier U. STAT nuclear translocation: potential for pharmacological intervention. Expert opinion on therapeutic targets, 2007,11(10):1355-1365.

[20] Malemud C J. Negative Regulators of JAK/STAT Signaling in Rheumatoid Arthritis and Osteoarthritis. Int J Mol Sci, 2017,18(3) :484-493.

[21] Yao K, Xing H C, Wu B, et al. Effect of TIEG1 on apoptosis and expression of Bcl-2/Bax and Pten in leukemic cell lines. Genetics and molecular research : GMR, 2015,14(1):1968-1974.

chinaXiv:201707.00654v1